

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное бюджетное государственное образовательное учреждение  
высшего образования «Оренбургский государственный университет»  
Химико-биологический факультет  
Кафедра биохимии и микробиологии

# Введение в профиль «Микробиология»

---

*Использование микроорганизмов в научных  
исследованиях*

---

Лекция №5

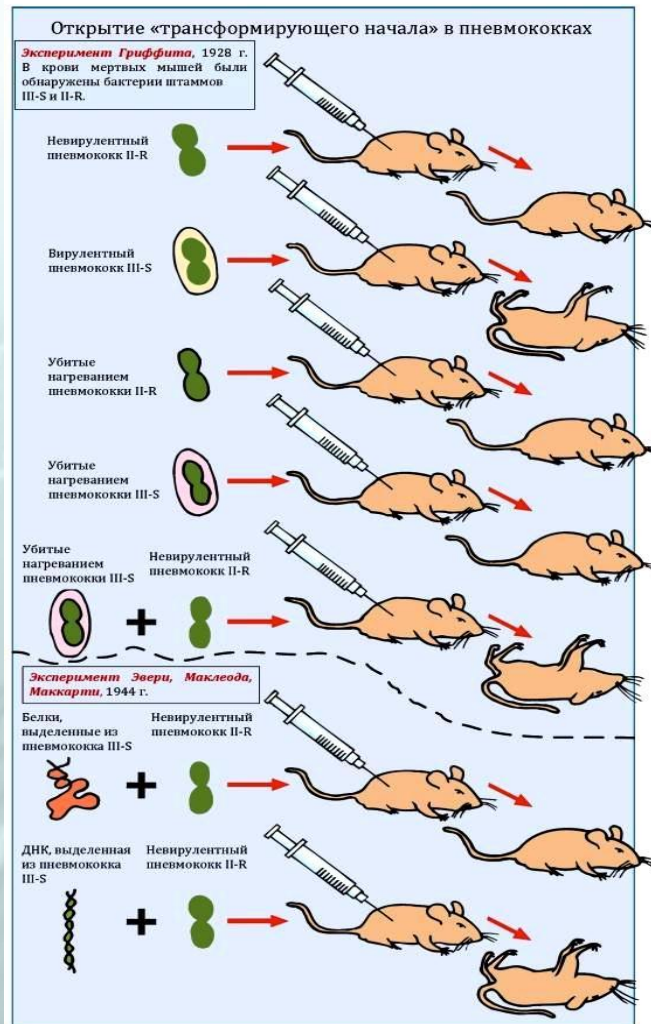
Лектор:  
Давыдова Ольга Константиновна  
к.б.н., доцент

# План:

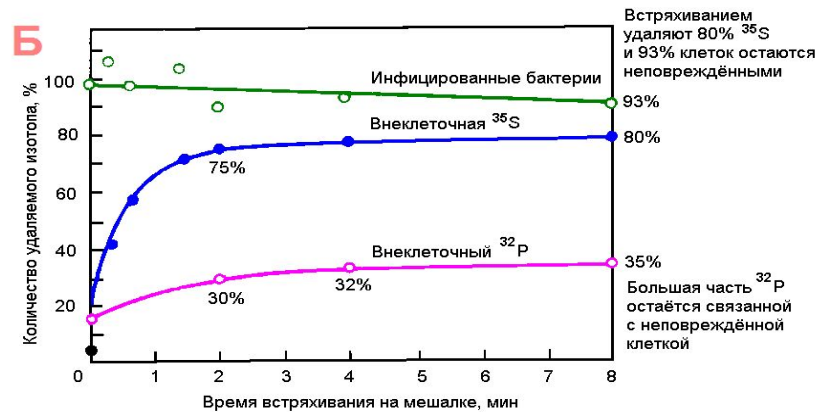
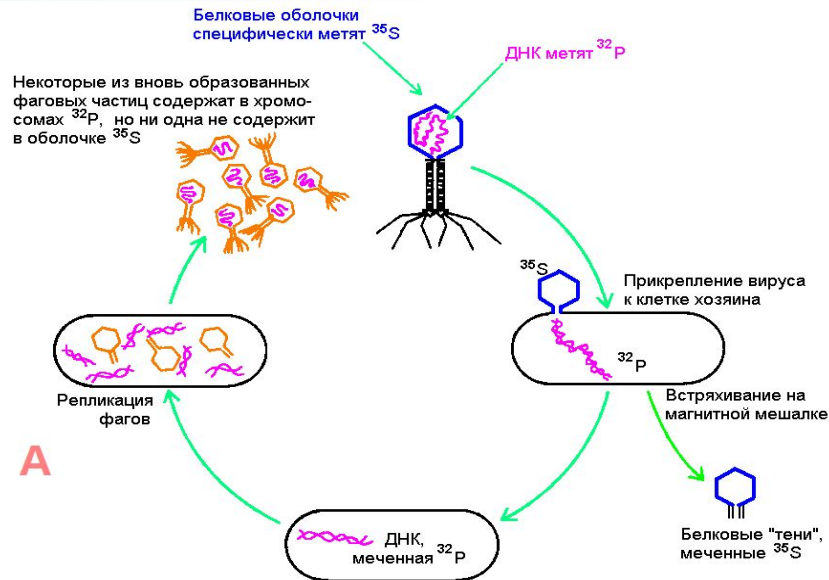
---

- *Классические генетические эксперименты с использованием бактерий*
- *Возможности применения прокариот для создания моделей основных процессов, осуществляющихся на клеточном и молекулярном уровне*
- *Исследования генома микроорганизмов*
- *Основные достижения генной инженерии*

# Открытие трансформации (Гриффит, 1928; Эйвери, Маклеод, Маккарти, 1944)

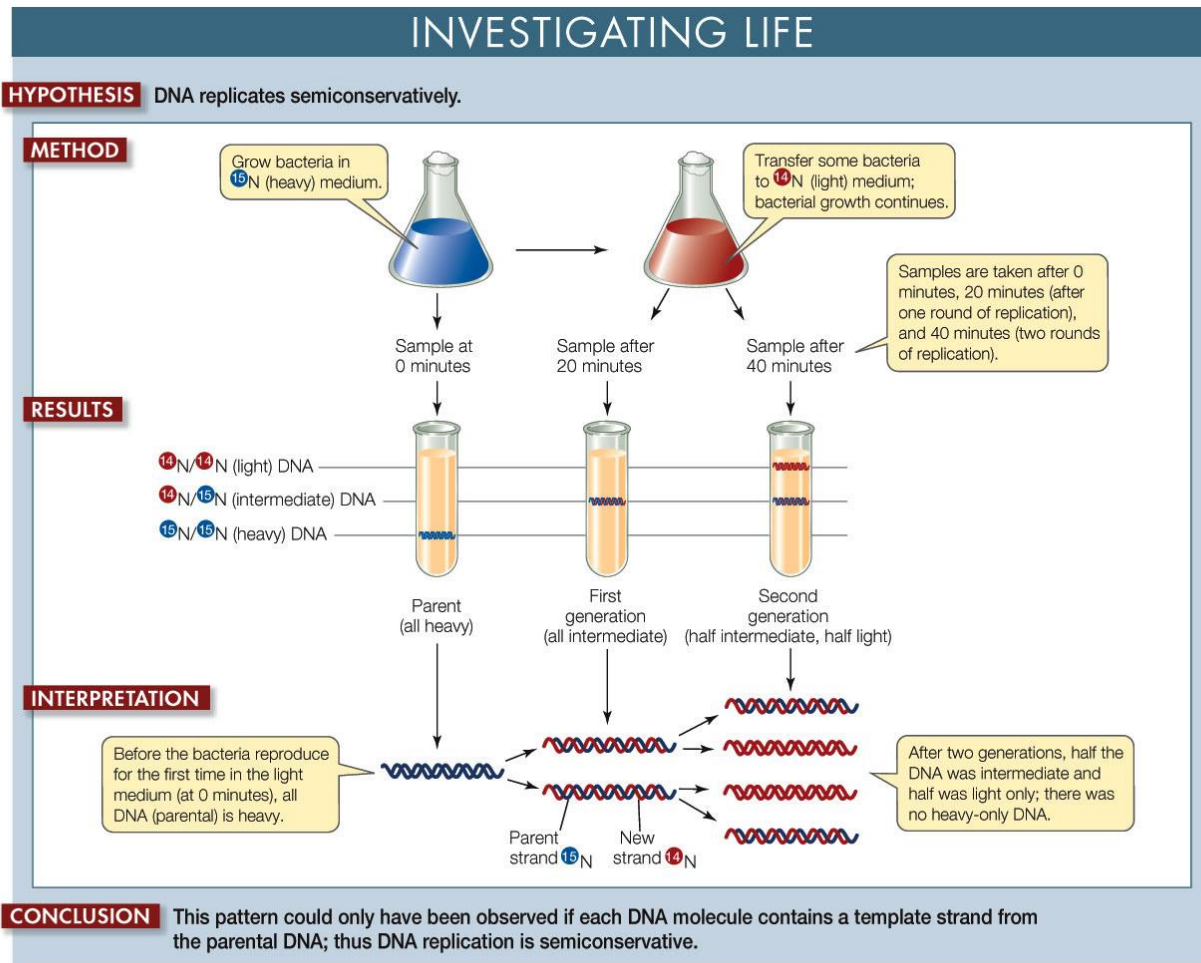


# Доказательство генетической роли ДНК (Херши, Чейз, 1952)

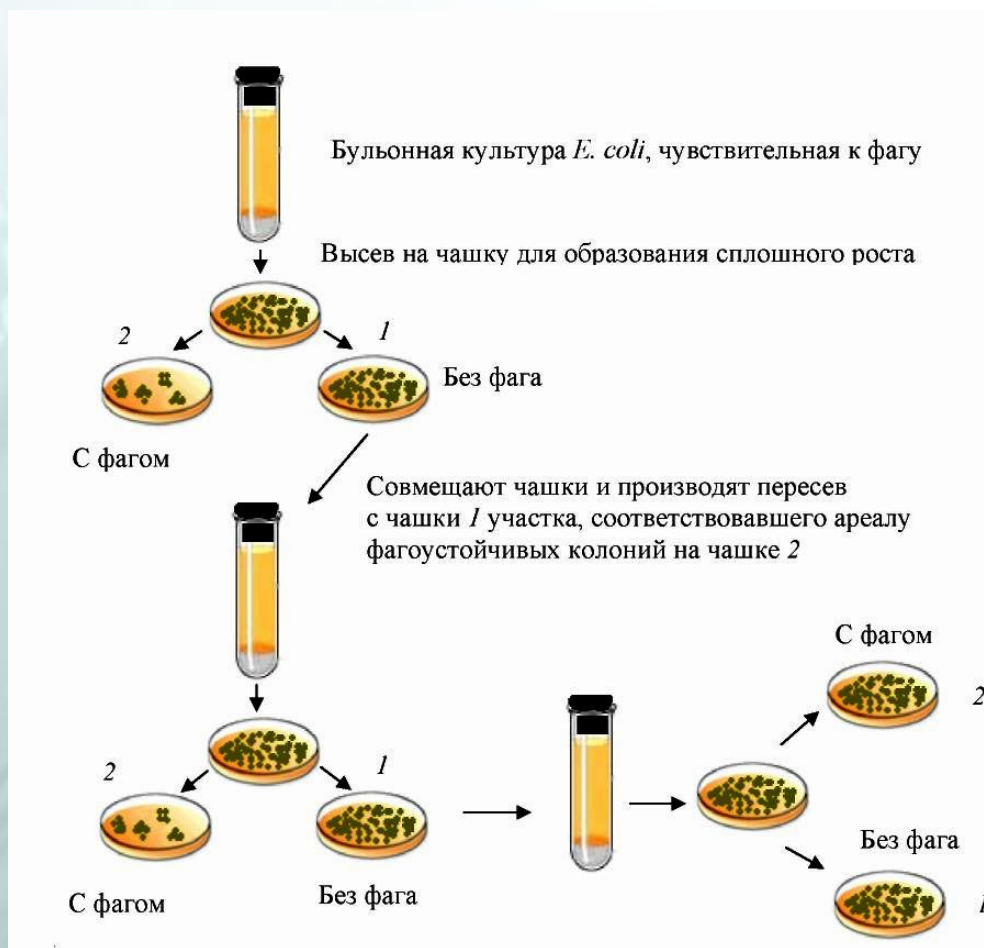




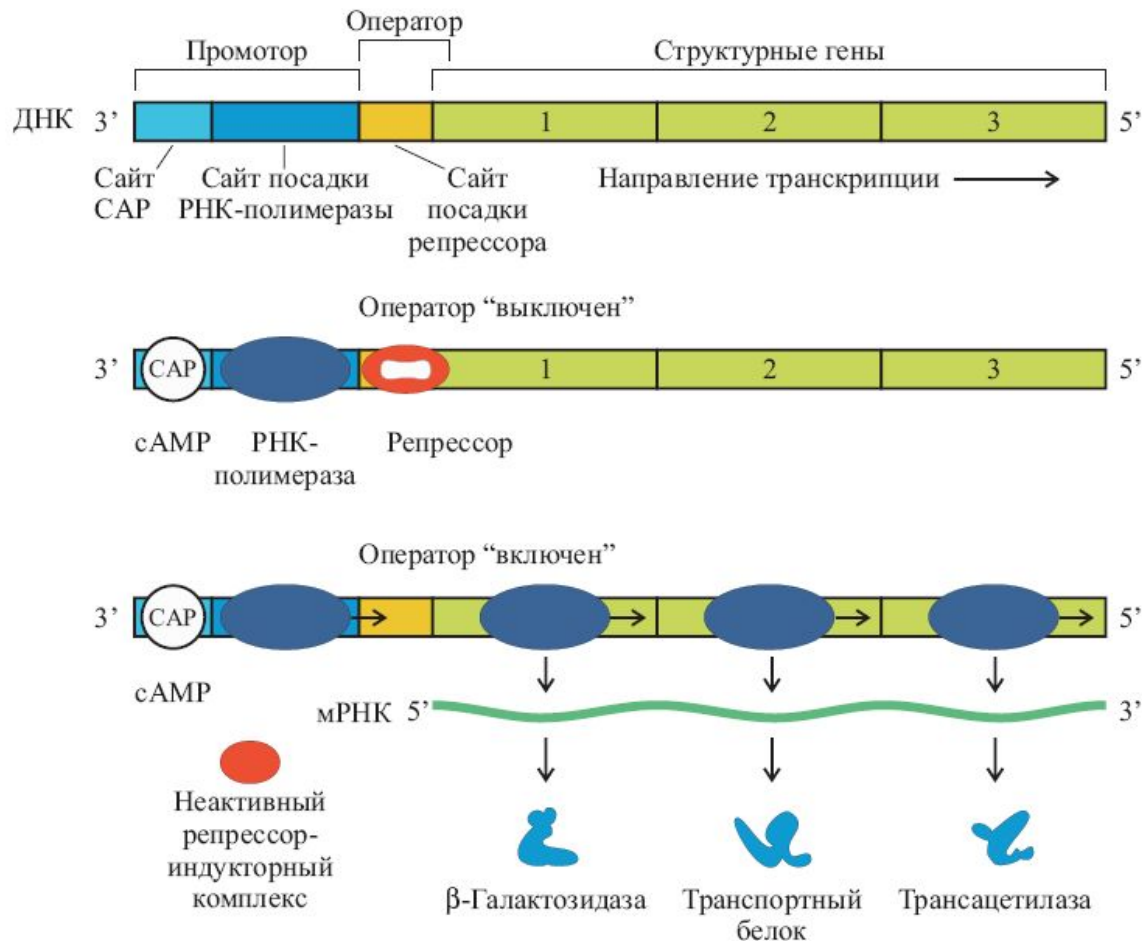
# Полуконсервативный механизм репликации ДНК (Мезельсон, Сталь, 1958)



# Метод реплик (Дж. и Э. Лледерберг, 1952)



# Оперонный принцип организации генов (Жакоб, Моно, 1961)



# Модельные объекты и их роль в генетическом анализе

---

- **Модельные организмы** - организмы, используемые в качестве моделей для изучения тех или иных свойств, процессов или явлений живой природы
- Позволяют значительно ускорить и облегчить процесс анализа, проводить эксперименты, невыполнимые на людях
- Хорошо изучены и легкодоступны
- Легко содержать и разводить в лаборатории
- Имеют короткое время генерации
- Живые организмы проявляют высокую степень сходства на молекулярном уровне, некоторые гены могут сохраниться в ходе эволюции у далеких видов



# Модельные объекты и их роль в генетическом анализе

---

- **Модельным объектом** обычно считают организмы, удовлетворяющие большинству требований экспериментатора при решении определенной генетической задачи, прежде всего обеспечивающие большую разрешающую способность анализа
- Впервые внимание к важности модельных объектов в генетических исследованиях привлек *И. Г. Мендель*. Он посвятил этому вопросу специальный раздел в работе "Опыты над растительными гибридами", так и назвав его: "Выбор подопытных растений". Он писал, что выбор растительной группы, которая будет служить опытам, должен быть сделан с наивозможной осторожностью, если мы не хотим подвергнуть риску самый успех опыта (1965). И далее перечислял качества, особенности растений, удобных для генетических опытов: наличие у них константных альтернативно проявляющихся признаков, хорошая плодовитость гибридов, простота постановки скрещиваний, сравнительно короткий период вегетации.
- Со времен Менделя в практику генетических исследований введены многие модельные объекты, которые используются для решения различных генетических задач. Это дрозофила, кукуруза, мышь, арабидопсис, дрожжи, нейроспора, кишечная палочка (*E. coli*) и др.

# Исследования генома микроорганизмов

---

- **Размер хромосомы бактерий** по данным разных методов (генетического: размер трансдуцирующего фрагмента; физических: вискоэластометрический метод, скорость ренатурации, электронная микроскопия) составляет для *Pseudomonas aeruginosa*  $2,1 \cdot 10^9$  Д (= а.е.м.), для *Escherichia coli* K-12 -  $2,8 \cdot 10^9$ , для *Bacillus subtilis* -  $2,0 \cdot 10^9$  -  $2,6 \cdot 10^9$  и для *Streptomyces coelicolor* -  $4,7 \cdot 10^9$  Д
- Если исходить из среднего размера гена в 1500 пар нуклеотидов, то бактериальная хромосома может содержать около 3000 генов
- **Число хромосом** в одной клетке бактерий зависит от стадии развития и физиологических условий роста культуры. При выращивании культуры на богатой среде в условиях хорошей аэрации может быть несколько хромосом в одной клетке вследствие реинициации новых циклов репликации ДНК еще до деления клетки
- **Число** автономно реплицирующихся кольцевых молекул **плазмид** определяется системой контроля репликации. При наличии строгого контроля репликации число копий плазмид на одну хромосому невелико, а при ослабленном контроле репликации оно увеличивается на 1-2 порядка, достигая нескольких десятков и сотен копий

# Исследования генома микроорганизмов

---

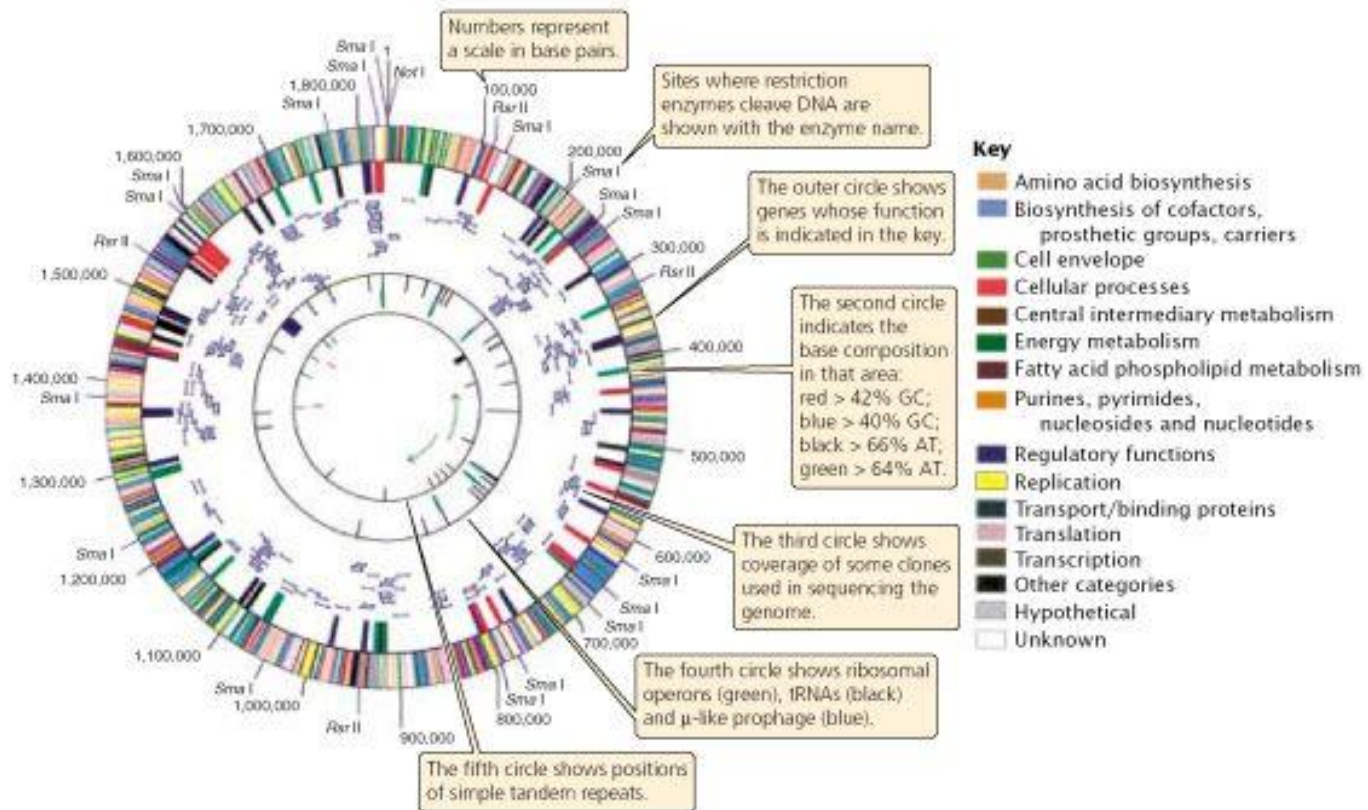
Термин "геном" был предложен Г. Винклером в 1920 г. для описания совокупности генов, заключенных в гаплоидном наборе хромосом организмов одного биологического вида

## **Разделы геномики:**

структурная геномика – содержание и организация геномной информации;  
функциональная геномика – реализация информации, записанной в геноме, от гена – к признаку;  
сравнительная геномика – сравнительные исследования содержания и организации геномов разных организмов;

# Исследования генома микроорганизмов

Бактерия *H. influenzae* была первым свободно живущим организмом, геном которого был секвенирован (TIGR, США)





# Исследования генома микроорганизмов

*E. coli*



Белки P1 P2 P3 P4 P5

Бактерия А

Бактерия В

Бактерия С



P1 P2 P3 P6

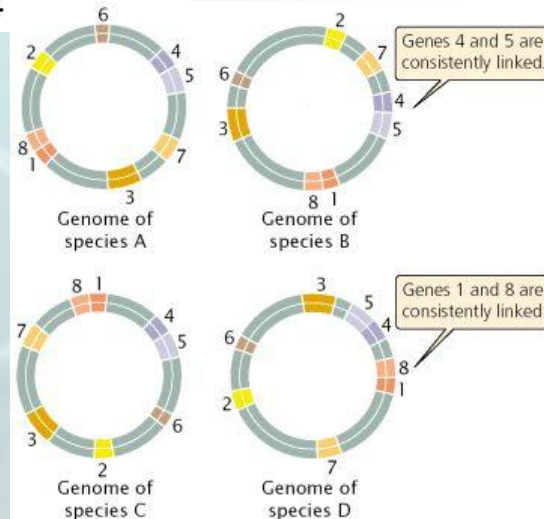
P1 P3 P4 P6

P2 P4 P5

Proteins	Species				
	<i>E. coli</i>	A	B		C
1	+	+	+	-	Белки 1, 3 и 6 либо присутствуют или все вместе отсутствуют. Из этого можно заключить, что они функционально связаны
2	+	+	-	+	
3	+	+	+	-	
4	+	-	+	+	
5	+	-	-	+	
6	+	+	+	-	

Филогенетический профиль белков – основа гипотез об их функциях: белки P1, P3 и P6 присутствуют у трех разных видов бактерий. У четвертого вида весь набор этих белков отсутствует.

- Выявление в разных геномах определенных наборов генов метаболических функций позволяет предположить, функциональную связь генов этого набора в едином участке метаболической цепи



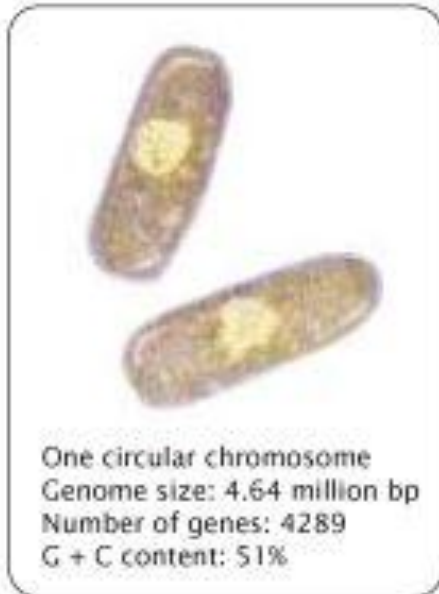
Геномы четырех бактерий. Гены 1 и 8, а также гены 4 и 5 соседствуют в разных геномах, хотя положение этого блока относительно других генов в каждом из геномов различается.



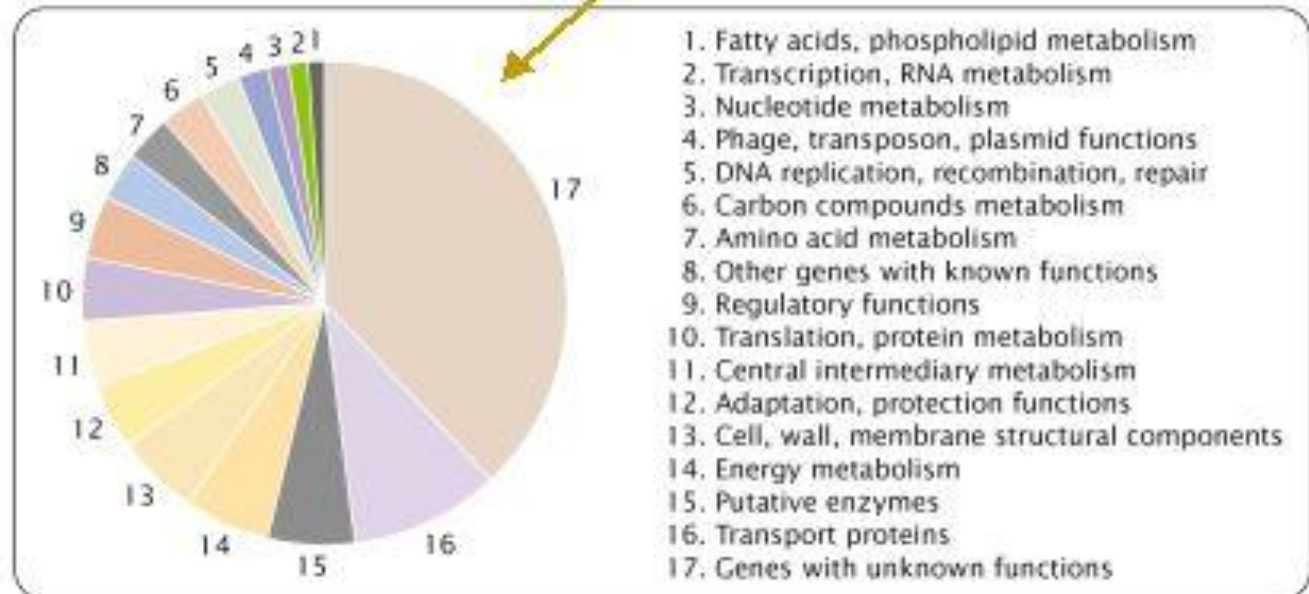
# Исследования генома микроорганизмов

Даже для прекрасно изученного организма – кишечной палочки, не понятны функции около трети из 4289 ее генов

(a) *Escherichia coli*  
(common bacteria)



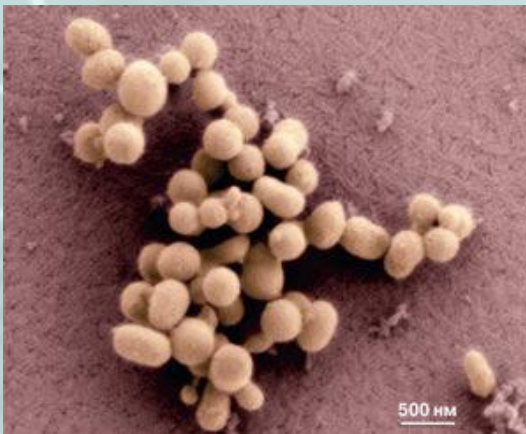
(b)



# Проект «Искусственный геном»

---

- Институт Крейга Вентера, публикация в мае 2010 года в журнале «*Science*» под названием «Создание бактериальной клетки, которая контролируется химически синтезированным геномом»
- Синтетическая ДНК, состоящая из 1,08 миллиона нуклеотидов, стала самой длинной молекулой, синтезированной когда-либо в лабораторных условиях
- Синтезировали геном одной бактерии и внедрили его в клетку бактерии другого вида (Бактерия-реципиент *Mycoplasma capricolum*, бактерия-донор — *Mycoplasma mycoides*). Так впервые достоверно было показано, что ДНК действительно содержит полную информацию о работе всей живой клетки



Электронная микрофотография синтетической бактерии *Mycoplasma mycoides*

# Проект «Минимальный геном»

---

- «Минимальный» геном обеспечивает все необходимые функции, которые позволяют одноклеточному организму существовать в определённой среде
- Работы в этом направлении ведутся в основном с бактериями рода *Mycoplasma*. Геномы микоплазм, как уже говорилось, очень малы (от 580 до 1400 тысяч пар оснований) и хорошо изучены. Самый-самый короткий геном у *Mycoplasma genitalium*. Его длина — около 580 тысяч пар оснований, которые составляют 485 генов
- Предлагаемый гипотетический минимальный набор генов (по последним расчётам группы Вентера — от 310 до 388 генов)
- Внедряя «минимальный» геном в клетку и добавляя к ней другие гены, исследователи намереваются создавать простейшие организмы с новыми, заданными наперёд свойствами



Руководители работы Крейг Вентер (слева) и Гамильтон Смит